



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

Evaluación in vitro de la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre un Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Carmen Rocio GÓMEZ LOAYZA

ASESOR

Doris Elizabeth SALCEDO MONCADA

Lima, Perú

2018

MIEMBROS DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

- **Presidente** : Mg. Dora Noelia Gómez Meza
- **Miembro** : Mg. Arnaldo Alfredo Munive Degregori
- **Miembro (Asesor)** : Dra. Doris Elizabeth Salcedo Moncada

DEDICATORIA

A Dios por hacer posible que logre alcanzar este primer paso en mi futuro profesional y darme el aliento de vida necesario para poder afrontar siempre los retos del día a día con una sonrisa en el rostro.

A mis padres Viviana y Julio por su apoyo incondicional y paciencia en cada momento de mi vida, quienes me enseñaron que aún en los momentos más difíciles uno puede seguir adelante.

A mi tío Nino quien demostró ser como un segundo padre y un hermano para mí por estar pendiente de mí en todo momento desde el día en que nací.

A mis docentes por su gran contribución en mi vida universitaria brindándome los conocimientos necesarios para desarrollarme como profesional y porque además de ser maestros, muchos de ellos me brindaron su cariño y amistad como personas.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Doris Salcedo Moncada por su apoyo, comprensión y cariño a lo largo de toda mi formación universitaria, porque siempre me supo enseñar e instruir como la gran maestra que es para mí, tenerme paciencia como una amiga, pero sobre todo, saberme escuchar y guiar como una segunda madre.

A los doctores miembros del jurado, la Dra. Noelia Gómez, por brindarme su apoyo, preocupación y paciencia en cada una de las revisiones, brindándome sus apreciaciones al detalle y al Dr. Arnaldo Munive por contribuir con su amabilidad, enseñanza y asesoría para la realización de este trabajo.

A la Dra. Hilda Moromi por su apoyo y asesoría en la parte microbiológica de este trabajo.

A María Salcedo y Dayana Príncipe que siempre estuvieron a mi lado aún en los peores momentos, brindándome su apoyo, amistad y cariño incondicional ya que hubiera sido muy difícil lograr muchas cosas sin su ayuda, porque más que amigas y colegas son como las hermanas que nunca tuve y siempre creyeron en mí.

A la Sra. Gidget Castillo quien siempre me estuvo apoyando en todo momento, me brindó su confianza, su amistad, el cariño de su familia y la calidez su hogar en estos últimos años, siendo parte fundamental de mi desarrollo personal y profesional.

A Max porque a pesar de no estar en este mundo, siempre estará en mi corazón.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre un Biofilm conformado por *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, donde primero se reactivaron las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans* luego se inocularon las colonias por separado en la escala de Mc Farland en el estándar de turbidez nº0,5 para asegurar una cantidad de 10^8 (UFC/ml) y luego fueron combinadas en 5 ml de solución salina, seguidamente se sembró este Biofilm formado en Agar BHI, para lo cual se usaron 10 placas Petri con 4 discos estériles en cada placa embebidas por separado en las soluciones de Hipoclorito de Sodio al 2,5% e Hipoclorito de Calcio al 2,5%, se usó como control positivo al Hipoclorito de Sodio al 5.25% y agua destilada para el control negativo. Luego de su incubación a 37°C por 24 horas se realizó la medición de los halos de inhibición correspondientes. Se observó como resultado que las medias entre los halos correspondientes al Hipoclorito de Sodio al 2,5% fue de 13,380 y al Hipoclorito de Calcio al 2,5% fue de 13,428 ;no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($p < 0,05$) según la prueba estadística comparativa de Tukey. Se concluye que el Hipoclorito de Calcio y el Hipoclorito tienen similar acción antibacteriana y antifúngica frente al *Enterococcus faecalis* y la *Cándida albicans* respectivamente.

Palabras Clave: Antibacterianos, antifúngicos, irrigantes del conducto radicular, hipoclorito de calcio, biofilms, cavidad pulpar.

ABSTRACT

Aim: Evaluate the antimicrobial efficacy of 2.5% Calcium Hypochlorite and 2.5% Sodium Hypochlorite on a Biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*, where the strains of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* were reactivated. The colonies were inoculated separately on the Mc Farland scale at turbidity standard No. 0,5 to ensure an amount of 10^8 (CFU / ml) and then they were combined in 5 ml of saline, then this Biofilm formed in Agar BHI, for which 10 Petri dishes with 4 sterile disks in each plate embedded separately in the solutions of 2,5% Sodium Hypochlorite and 2,5% Calcium Hypochlorite, where 5,25% Sodium Hypochlorite was used as a positive control and distilled water as a negative control. After incubation at 37°C for 24 hours, the measurement of the corresponding inhibition zones was carried out. It was observed as a result that the means between the haloes corresponding to 2,5% Sodium Hypochlorite was 13.380 and 2,5% Calcium Hypochlorite was 13.428, not finding statistically significant differences between the experimental groups ($p < 0.05$).) according to Tukey's comparative statistical test. It is concluded that Calcium Hypochlorite and Hypochlorite have similar antibacterial and antifungal action against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* respectively.

Key words: Antibacterial, antifungal, irrigating root canal, calcium hypochlorite, biofilms, pulp cavity.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	10
II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	11
2.1. Área problema.....	11
2.2. Delimitación del problema	13
2.3. Formulación	14
2.4. Objetivos	14
2.5. Justificación.....	15
2.6. Limitaciones	15
III. MARCO TEÓRICO	16
3.1. Antecedentes	16
3.2. Bases teóricas.....	22
3.2.1. Irrigación endodóntica	22
3.2.1.1. Objetivos de la irrigación endodóntica.....	22
3.2.1.2. Propiedades de un irrigante ideal.....	24
3.2.1.3. Mecanismo de acción.....	24
3.2.1.4. Técnicas de irrigación endodóntica	25
3.2.1.5. Clasificación de soluciones irrigantes.....	25
3.2.2.Hipoclorito de Sodio	28

3.2.3. Hipoclorito de Calcio	31
3.2.4. Biofilm	33
3.2.4.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	34
3.2.4.2. <i>Cándida albicans</i>	35
3.3. Hipótesis	37
3.4. Operacionalización de variables	38
IV. METODOLOGÍA.....	39
4.1. Tipo de investigación.....	39
4.2. Población y Muestra.....	39
4.2.1.Población de estudio	39
4.2.2.Tamaño de Muestra	39
4.2.3.Selección de la Muestra	39
4.3.Procedimientos y técnicas.....	40
4.3.1. Reactivación de la cepa	40
4.3.2. Siembra de microorganismos.....	40
V. RESULTADOS	42
VI. DISCUSIÓN	48
VII. CONCLUSIONES	53
VIII. RECOMENDACIONES.....	54

IX. BIBLIOGRAFÍA..... 55

X. ANEXOS..... 64

I. INTRODUCCIÓN:

El tratamiento endodóntico tiene como objetivo principal la eliminación de microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares, los cuales, se encuentran tanto en procesos infecciosos primarios como también refractarios, para lo cual está compuesto de una serie de factores que van a permitir lograrlo, uno de ellos y el principal es la irrigación.

Las infecciones persistentes del conducto radicular están relacionadas con la retención de microorganismos en el tejido dentinario ya sea antes, durante o después del tratamiento endodóntico, donde los microorganismos implicados con más frecuencia son el *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans*.

La instrumentación por sí sola no es capaz de eliminar todo el tejido pulpar y los microorganismos, debido a la complejidad de los conductos radiculares, por lo cual, resulta totalmente necesario el uso de una solución que acompañe este proceso y que cumpla con la mayoría de las características de un irrigante ideal.

Debido a las razones antes mencionadas el Hipoclorito de Sodio se ha convertido en el principal irrigante durante el tratamiento endodóntico, el cual, en sus diferentes concentraciones, cumple con la mayoría de estas características tales como lubricante, desinfectante y excelente disolvente de tejido orgánico pero además también tiene características citotóxicas, las cuales nos conllevan a buscar nuevas alternativas de soluciones, como por ejemplo, el Hipoclorito de calcio, del cual se espera principalmente que pueda ser efectivo frente a los diferentes microorganismos, especialmente a los antes mencionados.

II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

2.1. ÁREA PROBLEMA

La irrigación durante el tratamiento endodóntico es uno de los factores determinantes para mantener el éxito de la misma, siendo un complemento a la maniobra mecánica o instrumentación en los diferentes conductos radiculares puesto que coadyuva con la remoción de tejido pulpar, sirve como lubricante, además de poseer acción antibacteriana contra los diferentes microorganismos aerobios y anaerobios presentes en los mismos, así como toxinas bacterianas en el sistema de conductos.

Para lograr el éxito en el tratamiento endodóntico es muy importante la limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares, porque los microorganismos que permanecen en ellos después del tratamiento, por un inadecuado control de los mismos durante sus diferentes etapas, son la principal causa del fracaso endodóntico, por lo tanto, la desinfección debe ser óptima.

La compleja anatomía de los conductos radiculares hace necesaria una minuciosa y exhaustiva preparación químico-mecánica, para lo cual, tradicionalmente se utiliza el Hipoclorito de Sodio en sus diferentes concentraciones de 0,5%; 1%; 2,5% y 5.25%. Idealmente, los irrigantes deben tener la capacidad de disolver tejido orgánico¹, ser antimicrobianos de amplio espectro, eficaces contra microorganismos anaerobios facultativos organizados en biofilms, así como prevenir la formación de detritus y barro dentinario durante la instrumentación o disolverlo una vez formado. Varios estudios han reportado que los microorganismos predominantes en piezas dentarias con

periodontitis apical son los *Streptococcus no mutans*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* y *Cándida*, los cuales al parecer sobreviven al tratamiento químico-mecánico del conducto radicular, es por eso, que se debe realizar una correcta desinfección de los mismos.²

Se considera al Hipoclorito de sodio la solución irrigadora más utilizada en la práctica actual, por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital, y por su amplio espectro antibacteriano, eliminando rápidamente bacterias, parásitos, priones, hongos y virus (incluyendo el HIV, rotavirus y el virus de la hepatitis A y B)³. Su pH alcalino de 11,8 neutraliza la acidez del medio y por lo tanto crea un ambiente inadecuado para el desarrollo bacteriano; sin embargo, se considera que esta propiedad añade un componente tóxico a la solución haciendo del hipoclorito de sodio un elemento cáustico⁴. Es excelente lubricante y blanqueador, posee una tensión superficial baja, una vida media de almacenamiento prolongada y su costo es bajo; sin embargo, puede ser lesivo para el tejido periapical⁵, el sabor es inaceptable por los pacientes, y por sí solo no remueve la capa de desecho, ya que sólo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina.⁶

Se han estudiado muchas soluciones en el intento de sustituir el hipoclorito de sodio, debido a su toxicidad. Entre estas soluciones está el Hipoclorito de Calcio, el cual es una sustancia química relativamente estable y es comúnmente usada por la industria como tratamiento de esterilización y purificación de aguas; de acuerdo a estudios previos esta sustancia muestra propiedades antibacterianas y la capacidad de disolver materia orgánica.

2.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

El Hipoclorito de Sodio es aún el irrigante más utilizado en endodoncia por sus propiedades antibacterianas, lubricantes y disolvente del tejido. Los beneficios que proporciona como irrigante durante la terapia endodóntica son efectivos para eliminar el tejido vital y no vital, con un amplio efecto antibacteriano, destruyendo bacterias, hongos, esporas y virus, dentro de ellos uno de los más predominantes son el *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans* ⁷ donde el primero tiene una alta tasa de supervivencia y ambos muestran tolerancia a las condiciones de un medio adverso, siendo difícil su erradicación, además de ser un excelente lubricante, favoreciendo la acción de los instrumentos, posee una tensión superficial baja, vida media de almacenamiento prolongada pero también presenta características citotóxicas, por lo cual se busca comprobar que el Hipoclorito de Calcio que viene a ser un compuesto químico más estable, el cual, por sus propiedades químicas según su concentración podría ser menos citotóxico, además que este compuesto contiene una mayor concentración de cloro en concentraciones al 2,5% y 5,25% en comparación con el Hipoclorito de Sodio en las mismas condiciones, se demostró también que el Hipoclorito de Calcio tiene una tensión superficial muy parecida a la del anterior a temperatura ambiente y en concentraciones similares lo que permite la penetración por los diferentes conductos.⁸ Además su acción antibacteriana viene dada por la liberación de cloro que le otorga el hidróxido de calcio al compuesto primario.

2.3 FORMULACIÓN

¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre el Biofilm de *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*?

2.4 OBJETIVOS:

General:

Determinar la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*

Específicos:

1. Identificar la actividad antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.
2. Identificar la actividad antimicrobiana del Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.
3. Comparar la actividad antimicrobiana entre el Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% frente al Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*.

2.5 JUSTIFICACIÓN:

El siguiente trabajo se realiza para comparar y evaluar la eficacia del Hipoclorito de Calcio y el Hipoclorito de Sodio a la misma concentración como antimicrobianos para poder tener nuevas opciones de irrigación endodóntica frente a microorganismos presentes en la periodontitis apical crónica tales como son el *Enterococcus faecalis* el cual se encuentra presente desde un 32% a un 70% en conductos radiculares infectados, más específicamente en procesos crónicos, además es comunmente hallada en procesos refractarios y la *Candida albicans* se encuentra presente entre el 1 a 17% en las infecciones de conductos radiculares y se encuentran en su gran mayoría en infecciones refractarias endodónticas y en un 8% en infecciones primarias, señalando además que esta especie de hongo es la más común aislada en dichas patologías, cabe destacar que a la fecha hay pocos estudios que comparen la acción antibacteriana del hipoclorito de calcio como irrigante endodóntico frente a dichos microorganismos.

2.6 LIMITACIONES

Una de las principales limitaciones en este estudio consiste en conseguir las soluciones en sus distintas concentraciones, tanto el Hipoclorito de Sodio como el Hipoclorito de Calcio y el mantenimiento de las mismas.

Otra limitación importante radica en la escasa bibliografía encontrada acerca del Hipoclorito de Calcio como irrigante durante el tratamiento endodóntico.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 ANTECEDENTES

Ayhan H. y col (1999) Determinaron el efecto antimicrobiano de varios irrigantes endodónticos contra seis microorganismos seleccionados: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*; para lo cual se desarrolló la prueba de difusión en agar en donde se utilizaron discos de papel de Whatman pre esterilizados de 6 mm de diámetro y se empaparon con las soluciones, colocados sobre las placas Petri en agar previamente sembradas. Se registró la zona de inhibición para cada placa y los resultados fueron analizados estadísticamente donde el Hipoclorito de Sodio al 5,25% demostró la mayor eficacia frente a las demás soluciones. La disminución de la concentración de Hipoclorito de Sodio al 0,5% redujo significativamente su efecto antimicrobiano a comparación del alcohol al 21%, la clorhexidina al 2%, paramonoclorofenol (cresofeno) que demostraron un mayor efecto antimicrobiano.⁹

Valera M. y col (2001) Evaluaron el efecto antifúngico del Hipoclorito de Sodio al 1% y cinco medicamentos intraconductos sobre *Candida albicans*, para esto, se contaminaron los conductos de premolares unirradiculares con dicho microorganismo. Los conductos se irrigaron con solución salina estéril y después se trataron de la siguiente manera : (I) Con pasta Calen (hidróxido de calcio / pasta de polietileno glicol); (II) Con Paramonoclorofenol alcanforado (CPMC); (III) Con solución de yodo al 2%; (IV) Con formalina tricresol; (V) Con

pasta de Calen y CPMC ; (VI) con irrigación de hipoclorito de sodio al 1% y sin medicamento intraconducto; y (VII) no se utilizó ningún medicamento intraconducto. Los forámenes apicales a continuación se sellaron con Cavit y las raíces se almacenaron en una cámara húmeda a $37 \pm 1^{\circ} \text{C}$ durante 14 días. Los canales fueron reinstrumentados e irrigados con solución salina estéril. Las puntas de papel estériles se utilizaron para transferir el contenido del conducto radicular a tubos de ensayo que contenían una solución salina estéril. Parte de la suspensión se recogió en agar de dextrosa de Sabouraud con cloranfenicol y se incubó a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. El CPMC fue eficaz en 100% de las muestras seguido en orden de efectividad decreciente por el hidróxido de calcio con CPMC (70% de eficacia), el Hipoclorito de Sodio al 1% (70% de eficacia), la formalina tricresol (60% de eficacia), solución de yodo al 2% (50% de eficacia), pasta de hidróxido de calcio (30% de eficacia), y la solución salina sin medicación intracanal. Demostrando así la alta efectividad del Hipoclorito de Sodio como irrigante antifúngico sobre *Candida albicans*.¹⁰

Lin Y. y col. (2003) Encontraron que el *Enterococcus faecalis* es comúnmente aislado en tratamientos fallidos de endodoncia. La irrigación con gluconato de clorhexidina se sugirió en base a su efecto antimicrobiano y sustantividad. El hidróxido de calcio también es un agente antimicrobiano eficaz debido a su alta alcalinidad. El propósito de este estudio fue probar el efecto individual y combinado del hidróxido de calcio y la clorhexidina contra el *Enterococcus faecalis*. La prueba de difusión de Agar se realizó en placas de Mueller-Hinton. Donde se impregnaron discos de papel con: (A) CaOH en polvo con agua estéril; (B) Pulpdent®; (C) Peridex® al 0,12%; (D) CaOH en polvo con

Peridex®; y (E) Pulpdent® con Peridex®. Donde la ampicilina sirvió como control. Las placas se incubaron a 37 °C durante 72 h. Peridex® mostró zonas significativamente más grandes de inhibición en comparación con CaOH. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre Peridex® y la combinación de CaOH y Peridex®¹¹.

Radcliffe C. y col (2004) Determinaron la resistencia de microorganismos asociados a infecciones endodónticas refractarias utilizando el Hipoclorito de Sodio como irrigante intraconducto. Se utilizaron cepas de *Actinomyces naeslundii*, *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*, contra Hipoclorito de Sodio ajustado a 0,5%; 1,0%; 2,5% y 5,25%. En el caso de *Enterococcus faecalis*, se usaron tiempos de contacto de 1, 2, 5, 10 y 30 minutos. La acción antimicrobiana se detuvo con la adición de tiosulfato sódico. Adicionalmente, se usaron placas para contar unidades de formación de colonias (UFC) y se usaron diluciones a 10 para poder realizarlo. Además el *Enterococcus faecalis* resultó ser más resistente a Hipoclorito de Sodio. Su uso al 0,5% durante 30 minutos redujo las UFC a cero para las cepas ensayadas. Esto se compara con 10 minutos para 1,0%, 5 minutos para 2,5% y 2 minutos para 5,25%. Donde se llega a la conclusión que la asociación de *E. faecalis* con la infección endodóntica refractaria puede resultar, al menos parcialmente, de alta resistencia de esta especie a NaOCl. Esto no parece ser el caso de *A. naeslundii* o *C. albicans*¹².

Fidalgo Da Silva T. y col (2010) Evaluaron la actividad antimicrobiana de tres irrigantes intraconducto sobre *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos se incubaron en presencia

de ácido cítrico al 6% y 10%, EDTA al 17% y NaOCl 0,5%; 1,0%; 2,5% y 5,25%. Se realizaron pruebas de difusión en agar para evaluar el efecto inhibitorio de los irrigantes sobre la actividad metabólica de estos microorganismos. Dentro de los diámetros medios de las zonas de inhibición para los cultivos de *Candida albicans* los más importantes fueron: 22,1 mm (NaOCl al 2,5%) y 28,5 mm (NaOCl al 5,25%). Los diámetros medios de las zonas de inhibición para *E. faecalis* más predominantes fueron 5,4 mm (NaOCl al 2,5%) y 8,3 mm (NaOCl al 5,25%). Para *S. aureus*, de igual manera 8,8 mm (NaOCl al 2,5%) y 10,0 mm (NaOCl al 5,25%). La mayoría de las soluciones de irrigantes presentaron actividad antimicrobiana efectiva contra *C. albicans*. En conjunto, estos resultados indican que el 2,5% y el 5,25% de NaOCl son potentes antimicrobianos contra *S. aureus*, *E. faecalis* y *C. albicans* mientras que el 0,5% y el 1% de NaOCl son sólo microbiostáticos frente a los microorganismos utilizados. El ácido cítrico al 6% y 10% así como el EDTA al 17% no afectaron la viabilidad de ninguno de los microorganismos ensayados¹³.

Valera M y col. (2013) Evaluaron la actividad antimicrobiana de las sustancias químicas auxiliares y extractos naturales sobre *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* inoculados en conductos de setenta y dos piezas unirradiculares los cuales estaban contaminados con *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* durante 21 días. Los grupos se dividieron de acuerdo a lo siguiente: G1) Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 2,5%, G2) gel de clorhexidina al 2% (CHX), G3) aceite de ricino, G4) extracto glicólico de aloe vera, G5) extracto glicólico de jengibre, y G6) solución salina estéril (control). Las

muestras de los conductos radiculares se recolectaron a intervalos diferentes: se realizó una primera recolección para confirmar la presencia de microorganismos a los 21 días después de la contaminación; luego una segunda recolección, después de la instrumentación; y una tercera recolección, siete días después de la instrumentación. Las muestras microbiológicas se cultivaron en medio de cultivo y se incubaron a 37°C durante 48 horas. Donde el aceite de ricino y el jengibre redujeron significativamente el número de UFC de las bacterias ensayadas. La reducción de UFC / ml en la 2ª y 3ª recolección para los grupos G1, G2, G3 y G4 fue mayor en comparación a los grupos G5 y G6. Se concluyó que Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el gel de clorhexidina al 2% fueron más eficaces en la eliminación de *C. albicans* y *E. faecalis*, seguidos por el aceite de ricino y extracto de jengibre glicólico. El extracto de Aloe vera no mostró actividad antimicrobiana.¹⁴

De Almeida y col. (2014) Compararon in vitro la eficacia del Hipoclorito de Calcio $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e Hipoclorito de Sodio (NaOCl) asociado con la irrigación ultrasónica pasiva en conductos radiculares de dientes bovinos infectados con *Enterococcus faecalis*. Donde los conductos de 60 dientes unirradiculares bovinos extraídos se ampliaron hasta una lima 45, se esterilizaron en autoclave, luego, se le inocularon el *Enterococcus faecalis*, y se incubaron durante 30 días. Las muestras se dividieron en 6 grupos ($n = 10$) de acuerdo con el protocolo para la descontaminación: G1: ningún tratamiento; G2: agua destilada; G3: NaOCl al 2,5%; G4: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 2,5%; G5: NaOCl al 2,5% con la activación ultrasónica; y G6: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 2,5% con la activación ultrasónica.

Las pruebas microbiológicas se realizaron mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) para evaluar y mostrar, respectivamente, la eficacia de los tratamientos propuestos. Los datos se sometieron a análisis por medio de la prueba de Tukey post hoc ($\alpha = 0,05$). Concluyendo que el $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, así como la irrigación ultrasónica pasiva puede ayudar en la preparación de quimio-mecánica, lo que contribuye de manera significativa a la reducción del contenido microbiano durante el tratamiento del conducto radicular¹⁵.

Dumani y col. (2016) Compararon la eficacia in vitro de Hipoclorito de Calcio ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) e Hipoclorito de Sodio (NaOCl) asociado con el sistema de riego sónico (Vibringe) para lo cual los conductos de 84 piezas unirradiculares fueron contaminados con *Enterococcus faecalis* y ampliados hasta una lima 40, esterilizados en autoclave, luego se les inoculó la bacteria, y se incubaron durante 21 días. Las muestras se dividieron en 7 grupos de acuerdo con el protocolo de irrigación: G0: ningún tratamiento; G1: agua destilada; G2: NaOCl al 2,5%; G3: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 2,5%; G4: agua destilada con activación sónica; G5: NaOCl al 2,5% con activación sónica; y G6: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 2,5% con activación sónica. Antes y después de los procedimientos de descontaminación de muestras microbiológicas se recogieron y se contaron las unidades formadoras de colonias y se calcularon los porcentajes de reducción. Demostrando que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los sistemas de irrigación convencional con jeringa y el de riego sónico con $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ y NaOCl . Probando así que tienen una eficacia similar ante la eliminación de *Enterococcus faecalis* presentes en los conductos radiculares¹⁶.

Sedigh-Shams M. y col (2016) Compararon el efecto antifúngico de aceite esencial de *Zataria multiflora* con el Hipoclorito de Sodio (NaOCl) como irrigantes para conductos radiculares infectados con *Cándida albicans*. Sesenta premolares inferiores fueron infectados con *C. albicans*. Después de 72 horas de incubación, las muestras se dividieron en cuatro grupos. Los dientes del grupo 1 fueron irrigados con la concentración fungicida mínima (MFC) de *Z. multiflora* EO, en el Grupo 2 con el doble de MFC de *Z. multiflora*, en el Grupo 3 con MFC de NaOCl, y en el Grupo 4 con agua destilada (AD). Donde los resultados mostraron que el aceite de *Z. multiflora* tenía la misma eficacia antifúngica que la del NaOCl como antifúngico¹.

3.2 BASES TEORICAS

3.2.1. IRRIGACIÓN ENDODONTICA

La irrigación en endodoncia se define como la introducción de una o más soluciones en la cavidad pulpar antes, durante y después de la preparación biomecánica para desinfectar y limpiar el sistema de conductos y garantizar el éxito del tratamiento. Sin embargo, hasta ahora ninguna de las sustancias utilizadas en endodoncia con este fin cumple con todos los requisitos ideales.¹⁷

3.2.1.1. OBJETIVOS DE LA IRRIGACIÓN ENDODÓNTICA

El proceso de desinfección del conducto radicular no incluye sólo al conducto principal. En realidad, es indispensable que englobe a los conductos laterales, secundarios, inter-conductos y deltas apicales, ya que estas zonas no son accesibles a los instrumentos. Además, la

propia dentina está compuesta por túbulos llenos de prolongaciones de odontoblastos, que, en el caso de pulpas necróticas, están contaminados por bacterias.¹⁷

Entre los objetivos de la irrigación, tenemos :

1. Limpieza o arrastre físico de restos pulpaes, sangre líquida o coagulada, virutas de dentina, plasma, exudados, restos alimenticios etc., con el fin de evitar el taponamiento del conducto.
2. Acción detergente y de lavado por la formación de espuma y burbujas de oxígeno de los medicamentos usados.
3. Acción antiséptica o desinfectante.
4. Mantener húmedas o lubricar las paredes del conducto para una mejor acción de corte de los instrumentos.
5. Disolución de agentes orgánicos e inorgánicos del conducto radicular, incluyendo la capa de desecho, que se produce en la superficie de la dentina por la acción de los instrumentos y se compacta al interior de los túbulos dentinarios.
6. Aumenta la energía superficial de las paredes del conducto, favoreciendo el contacto de los medicamentos usados como curación temporaria y permitir la retención mecánica

3.2.1.2. PROPIEDADES DE UNA SOLUCIÓN IRRIGADORA IDEAL

La selección de una sustancia irrigadora no debe ser aleatoria. El parámetro debe ser regido por el caso en cuestión para que se obtenga el mejor resultado en cuanto a limpieza, saneamiento y desinfección¹⁷. De allí la importancia que tiene el estudio de las características de los distintos agentes de irrigación, de sus propiedades. Por ello, es necesario que todo irrigante posea ¹⁸.

1. Capacidad de disolver tejido pulpar vital y necrótico.
2. Escasa toxicidad para los tejidos vitales del periodonto.
3. Propiedad lubricante para facilitar el deslizamiento de los instrumentos y mejorar así su capacidad de corte.
4. Capacidad antibacteriana.
5. Sustantividad o capacidad residual

3.2.1.3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS IRRIGANTES

El irrigante es llevado convencionalmente hacia el interior del conducto radicular mediante una jeringa descartable. Este flujo al impactar sobre las paredes dentinarias ejerce energía y a su vez una presión dentro del conducto originando así la turbulencia, que apreciamos en forma de reflujo en el acceso cameral. El reflujo de la solución irrigante, al desplazarse en sentido coronal dentro del canal radicular, es el responsable de la remoción y limpieza del contenido del espacio ocupado originalmente por la pulpa¹⁹

3.2.1.4. TECNICAS DE IRRIGACIÓN ENDODÓNTICA

Es de suma importancia lograr que los irrigantes alcancen por cualquier medio el tercio apical radicular de manera rápida y eficiente, debido a que en este tercio se encuentran la mayor cantidad de ramificaciones, principalmente en molares. Estas ramificaciones representan vías potenciales para que, a través de ellas las bacterias y sus productos provenientes de un conducto necrótico alcancen y dañen el ligamento periodontal.

La efectividad de algunos irrigantes como el hipoclorito de sodio en estudios in vivo, no ha sido tan prometedora como en los estudios in vitro especialmente a nivel de tercio apical esto se debe a la complejidad anatómica propia de los conductos radiculares que dificulta la difusión y por lo tanto su acción.²⁰

3.2.1.5. CLASIFICACIÓN DE LAS SOLUCIONES IRRIGANTES.

Las sustancias que se indican con mayor frecuencia en endodoncia son¹⁷:

Compuestos halogenados:

- Solución de hipoclorito de sodio al 0,5% (solución de Dakin)
- Solución de hipoclorito de sodio al 1% (solución de Milton)
- Solución de hipoclorito de sodio al 2,5% (solución de Labarraque)
- Solución de hipoclorito de sodio al 5,25%
- Solución de hipoclorito de sodio al 4 - 6% (solución de Soda clorada en doble concentración)

Agentes Tensoactivos:

Llamados también surfactantes o agentes de superficie activa, son especies químicas con una naturaleza o estructura polar-no polar, con tendencia a localizarse en la interfase formando una capa monomolecular adsorbida en la interfase que cambia el valor de la tensión superficial. Donde las sustancias químicas no iónicas no poseen propiedades antimicrobianas, las preparaciones aniónicas tienen un potencial destructor amplio, pero su principal función es la desinfección.¹⁷

Tensoactivos Aniónicos.

- Lauril sulfato de sodio.
- Lauril dietilenglicol. Éter sulfato de sodio.

Tensoactivo Catiónico.

- Cloruro de benzalconio.
- Compuestos derivados de amonio cuaternario

Tensoactivo Neutros.

- Polisorbotos.
- Quelantes:
- Solución de ácido etilendiaminotetraacético – EDTA.
- Largal ultra.
- REDTA (preparado quelante comercial).
- Salvizol (0.5%).

Ácidos Orgánicos:

- Solución de ácido Cítrico al 10-50%.
- Solución de ácido Táurico al 5%.
- Peróxidos:
- Solución de Peróxido de Hidrógeno al 3%.
- Solución de Peróxido de Urea.

Asociaciones:

- Agente aniónico + Hipoclorito de Sodio.
- Agente aniónico + Nitrofurazona.
- Agente aniónico + Hidróxido de Calcio.
- Agente aniónico + EDTA.
- Hipoclorito de Sodio + Peróxido de Hidrógeno. (Reacción de Grossman).
- Hipoclorito de Sodio + Ácido Cítrico.
- Agente catiónico + EDTA.
- Peróxido de Urea + Carbowax, neutralizado en hipoclorito de sodio al 0,5%.

Otras soluciones:

- Agua destilada.
- Suero fisiológico.
- Solución de Hidróxido de Calcio al 0,14%.

3.2.2. HIPOCLORITO DE SODIO

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es un compuesto que puede ser utilizado para la desinfección del agua. Se usa a gran escala para la purificación de superficies, blanqueamiento y eliminación de olores.

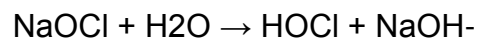
Alrededor del año 1785 el francés Berthollet desarrolló líquidos blanqueadores utilizando hipoclorito de sodio. La compañía de nombre Javel, introdujo este producto y lo llamó "licor de Javel". Al principio, se usó para blanquear algodón. Debido a sus características específicas, se extendió con facilidad. Este compuesto puede eliminar manchas de la ropa a temperatura ambiente. En Francia el hipoclorito de sodio todavía es conocido como el 'eau de Javel'.²¹

Es una solución clara de ligero color amarillento y un olor característico. El cual, tiene una densidad relativa de 1,1 (5,5% solución acuosa). Como agente blanqueante de uso doméstico normalmente contiene 5% de hipoclorito de sodio (con un PH de alrededor de 11, es irritante). Si está a mayor concentración, contiene un 10 a 15% de hipoclorito de sodio (con un PH alrededor de 13, se quema y es corrosivo).

Este compuesto es inestable, debido a que el cloro se evapora a razón de 0,75 gramos de cloro activo por día desde la solución, después de calentado el hipoclorito de sodio se desintegra. Esto también ocurre cuando éste contacta con ácidos, luz del día, ciertos metales y venenos así como gases corrosivos, incluyendo el gas de cloro. El hipoclorito de sodio es un oxidante fuerte y reacciona con compuestos combustibles y

reductores, además de ser una base débil inflamable. Estas características se deben tener en cuenta en los procedimientos de transporte, almacenamiento y uso de la solución.²²

Mediante la adición de agua al hipoclorito de sodio, se genera ácido hipocloroso (HOCl):



El ácido hipocloroso se divide en hipoclorito (HCl) y oxígeno (O). El hipoclorito de sodio es efectivo contra las bacterias, virus y hongos. Teniendo la propiedad de desinfectar de la misma manera que lo hace el cloro.²³

Los hipocloritos también conocidos como compuestos halogenados están en uso desde 1792 cuando fueron producidos por primera vez con el nombre de Agua de Javel, y constituía una mezcla de hipoclorito de sodio y de potasio.

En 1870, Labarraque, químico francés obtiene el hipoclorito de sodio al 2,5% de cloro activo y usa esa solución como desinfectante de heridas.

Este último ha sido usado como irrigante intraconductos para la desinfección y limpieza por más de 70 años. Se le ha reconocido como agente efectivo contra un amplio espectro de microorganismos patógenos: gram positivos, gram negativos, hongos, esporas y virus incluyendo el virus de inmunodeficiencia adquirida.

Debido a que tiene propiedades específicas en diferentes condiciones por ejemplo.

1. Disminuyendo el pH: Las soluciones de este compuesto puras tienen un pH de 12 y por tanto todo el cloro accesible está en forma de OCl, y se ha sostenido que las soluciones con un pH menor serían menos tóxicas. Sin embargo, mezclar el hipoclorito de sodio con bicarbonato produce una solución muy inestable con una vida de almacenamiento menor a una semana

2. Aumentar la temperatura de una solución de baja concentración: El aumento de la temperatura mejora inmediatamente la capacidad de disolución en los tejidos. Aún más, las soluciones calentadas remueven los restos orgánicos y el barro dentinario más eficientemente que los compuestos a temperatura ambiente. La capacidad de hipoclorito de sodio al 1% a 45°C para disolver pulpas dentales humanas equivale a la capacidad de hipoclorito al 5,25% a 20°C. También se ha demostrado la mejoría en la desinfección.

3. Activación ultrasónica: Se aduce que "acelera las reacciones químicas, crea un efecto cavitacional y la acción de limpieza se vuelve superior". Sin embargo, las investigaciones muestran resultados contradictorios y si acaso hay diferencias con el sistema tradicional, son mínimas.

La inyección accidental del hipoclorito de sodio ha sido reportado causante de dolor, edema y formación de hematomas. Otro reporte fue

el de inyección cerca del dentario inferior añadió a los síntomas trismus de dos semanas. Otro reporte más se hizo por la inyección intravenosa durante una hemodiálisis que causó paro cardiorrespiratorio donde afortunadamente se logró la recuperación²³.

Harrison y col. ²⁴evaluaron el efecto antimicrobiano del hipoclorito de sodio al 2,5% y 5,25% sobre las especies *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*, en periodos variando de 15 a 120 segundos. Después de 45 segundos de exposición al hipoclorito de sodio a 2,5% no hubo crecimiento de *Enterococcus faecalis*. La especie *Cándida albicans* fue eliminada después de un período de 15 segundos de contacto con las soluciones.

El hipoclorito de sodio no es efectivo contra *Cándida albicans* y a los *Enterococcus faecalis* a concentraciones menores de 0,3%, a partir de 0,5% ellas son efectivas contra esos microorganismos en un tiempo de acción de 15 segundos.¹⁹

Ahora se busca nuevas alternativas de irrigantes para poder trabajar intraconducto y poder tener nuevas opciones de desinfección e irrigación tal como el hipoclorito de calcio.

3.2.3 HIPOCLORITO DE CALCIO

El hipoclorito de calcio, es un miembro de la clase de compuestos químicos conocidos como sales de oxiácido de halógeno²⁵, también llamado "cal clorada" es un compuesto químico cuya fórmula es

$\text{Ca}(\text{ClO})_2$, se compone de las sales de calcio del ácido hipocloroso. Se produce disolviendo gas cloro (Cl_2) en una solución de óxido de calcio (CaO) e hidróxido de sodio (NaOH).²⁶ Es ampliamente utilizado en tratamiento de aguas por su alta eficacia contra bacterias, algas, moho, hongos y microorganismos peligrosos para la salud humana. Además es un agente blanqueador. Su apariencia es granulosa, de color beige claro. En solución acuosa desprende un olor similar al del hipoclorito sódico.

Dado su elevado poder de antisepsia, se utiliza como agente desinfectante del agua de las piscinas, principalmente en concentraciones del 70%.

El Hipoclorito de Calcio es una sustancia química relativamente estable y es comúnmente usada por la industria como tratamiento de esterilización y purificación de aguas. De acuerdo a estudios previos esta sustancia muestra propiedades antibacterianas y la capacidad de disolver materia orgánica. En lugar de disminuir el pH como el gas de cloro hace, el Hipoclorito de Calcio aumenta el pH del agua (haciendo el agua menos ácida). Sin embargo, las concentraciones de hipocloroso y de hipoclorito dependen todavía del pH del agua; Por tanto, disminuyendo el pH del agua, el ácido hipocloroso seguirá estando presente en el agua. Como resultado, el hipoclorito de calcio y el gas de cloro producen el mismo tipo de residuos.^{26,27}

Estudios recientes del 2016 (Leonardo y col) concluyen que las soluciones de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ son extremadamente alcalinas y tienden a

tener un contenido de cloro más disponible que NaOCl, pero tienen una tensión superficial mayor que NaOCl. En cuanto al contenido de cloro activo, estas soluciones tienden a ser estables a 30 días de almacenamiento cuando se mantiene a 25 ° C.²⁸

3.2.4. BIOFILM

El biofilm o biopelícula se puede definir como una estructura asociativa de una o varias estirpes bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos autoproducida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato. Según la OMS, el biofilm se puede definir también como un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo. Los biofilms se unen a superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas. Dentro de las biológicas optan preferentemente por tejidos necróticos. La importancia para la Endodoncia de esta forma de vida bacteriana es que es más resistente a los distintos germicidas conocidos que las bacterias en suspensión y que se postula como la causa de fracaso de tratamientos de conductos. Produce en el paciente signos y/o síntomas clínicos leves o imperceptibles durante su crecimiento, debido a una baja tasa de división bacteriana, inusual en los organismos bacterianos individuales. Además, dicha capacidad de resistencia es la característica principal del biofilm y no la virulencia, aunque no carece de ella, por lo que se trata de cuadros de avance lento y leve, pero de muy difícil erradicación. Para Siqueira y Rôças los casos de infección periapical crónica deben considerarse, a día de hoy, causadas por infecciones de tipo biofilm.²⁹

El proceso de formación del biofilm en el conducto radicular es aún muy desconocido. La teoría más aceptada consta de cuatro fases y fue descrita por Svensäter y Bergenholtz³⁰, aunque, por novedosa, no deja de ser modificada por otras. En la primera fase se forma una película adhesiva sobre la dentina promovida por el depósito de proteínas y otros compuestos derivados de las bacterias en suspensión, del proceso necrosis y/o inflamación, etc. En la segunda, sobre esa película pegajosa, se fijan algunas bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que están en suspensión. En la tercera, la primera capa de bacterias ya adherida, segrega mediadores que, por un lado van fijando más y más bacterias, de esa estirpe o de otras, y por otro, va formando la matriz extracelular de polisacárido, primera barrera defensiva característica del biofilm. En la cuarta y última, el biofilm va madurando y creando sistemas de defensa más complejos. Al mismo tiempo, arroja bacterias al exterior que cronifican la respuesta inflamatoria del huésped.^{31,32}

3.2.4.1. *Enterococcus faecalis*

Los anaerobios grampositivos y facultativos son las especies aisladas más frecuentemente dentro de canales tratados y alrededor del área periapical. Entre ellos, *Enterococcus faecalis* es el más frecuente.³³

Con respecto a esta bacteria se ha postulado que la resistencia de la misma a ser eliminada del interior del conducto, ya sea con instrumentación, irrigación y/o con medicación intraconducto, se debe a

que puede asociarse en forma de biofilm. George y cols. analizaron la ultraestructura del biofilm de *Enterococcus faecalis* combinando medios ricos y pobres en nutrientes con medios aeróbicos y anaeróbicos en dientes extraídos.³⁴ En sus resultados, exponen que el biofilm más desarrollado en madurez y organización es el que se da en medio rico y anaeróbico, advirtiendo incluso las estructuras en forma de champiñón y canales de agua descritas por Distel y cols.³⁵ En cambio, el medio rico y aeróbico formaba más cantidad de biofilm pero de menor organización, aunque era el más proclive a invadir los tubulillos dentinarios en profundidad. Postulan que esto quizás se deba a que al aumentar la cantidad de microbios, éstos buscan nuevas zonas de colonización, huyendo de la masificación, como ya expresaron Peters y cols.³⁶

Varios estudios han comparado la frecuencia del *Enterococcus faecalis* detectada en persistencia en infecciones intraradiculares primarias.^{37,38} Algunos de ellos mostraron que *E. faecalis* se asocia más a menudo con tratamientos endodónticos fallidos que infecciones primarias^{39,40}, mientras que otros indican que no se encontraron diferencias estadísticas entre ellos.⁴¹

3.2.4.2. *Cándida Albicans*

La aparición de hongos en las infecciones del conducto radicular primaria ha sido reportada por diferentes estudios. Sen y col.⁴² encontraron levaduras en gran medida. La invasión de los conductos radiculares en 4 de 10 dientes extraídos asociados con lesiones

periapicales. En una muestra, también se observaron estructuras de hifas de *Cándida*. Siqueira y col.⁴³ investigaron los patrones de colonización microbiana en las infecciones del conducto radicular primarios a través de microscopía electrónica de barrido, donde hallaron presencia de *Cándida* en proporción de 1 a 15 en relación con los demás microorganismos. Baumgartner et al. Detectaron *Cándida albicans* en 21% de las muestras tomadas de conductos radiculares usando un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa, donde microorganismos semejantes a las levaduras también se han encontrado en los conductos radiculares de los dientes obturados en el que el tratamiento ha fracasado.⁴⁴ Nair y col. observaron levaduras en dos de las nueve biopsias de las lesiones perirradiculares refractarios al tratamiento endodóntico.⁴⁵ Se encontró que *Cándida albicans* fue la especie más frecuentemente aislada. Waltimo y col. informaron de la aparición de hongos en 7% de las infecciones del conducto radicular persistentes en cultivo puro o con bacterias.⁴⁶ Otras especies de hongos aislados fueron *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, y *candidum Geotrichium*. Molander et al. encontraron *C. albicans* en 3 de 68 muestras de los dientes con lesiones periapicales crónicas que mostraron crecimiento microbiano detectable.⁴⁷ Peciuliene et al. aislaron *C. albicans* a partir de 6 de 33 dientes con cultivo positivo, en raíces asociadas con lesiones periapicales.⁴⁸ En conjunto, estos informes sugieren que los hongos pueden ser resistentes a la terapia. De hecho, se ha demostrado que la *Cándida spp.* es resistente a algunos medicamentos de uso común en endodoncia, incluyendo

hidróxido de calcio mezclado con vehículos inertes. Debido al creciente interés sobre el papel de los hongos en las infecciones del conducto radicular, especialmente como miembros de infecciones secundarias o persistentes asociados con el tratamiento endodóntico fallido, y los recientes informes de resistencia a los hongos contra los medicamentos intracanal de uso común.^{49,50}

3.3.HIPÓTESIS

La eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2.5% es mayor que la del Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre el *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*.

3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Independiente: Soluciones Irrigantes (Hipoclorito de Sodio e Hipoclorito de Calcio)

Variable	Conceptualización	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Soluciones irrigantes	Soluciones a base de Hipoclorito	Hipoclorito de Sodio	Presencia	Nominal	SI/NO
		Hipoclorito de Calcio	Presencia	Nominal	SI/NO

Variables Dependiente : Actividad antibacteriana ante *Enterococcus Faecalis* Y *Cándida Albicans*

Variables	Conceptualización	Dimensión	Indicador	Escala	Valor
Actividad Antimicrobiana ante el Biofilm de <i>Enterococcus Faecalis</i> y <i>Cándida Albicans</i>	Capacidad de suprimir o inhibir el crecimiento bacteriano en un medio dado.	Halo de inhibición del Biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Cándida albicans</i>	Diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano	Razón	mm

IV. METODOLOGÍA

4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Experimental: Por ser un estudio in vitro; en el cual se introduce de manera intencional una o más variables (variable independiente) para demostrar su efecto sobre otra variable (variable dependiente).

Transversal: Las variables fueron estudiadas en un determinado momento en el tiempo.

Prospectivo: Se registra información a medida que van sucediendo los hechos.

4.2 POBLACION Y MUESTRA

4.2.1. Población de Estudio: Microorganismos resistentes presentes en la periodontitis apical crónica.

4.2.2. Tamaño de la Muestras: Basándonos en los estudios anteriores realizados por Ayhan y col.⁹ las muestras serán de 40 discos.

4.2.3. Selección de la Muestra: Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Candida albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection).

4.3. PROCEDIMIENTO Y TECNICAS

4.3.1. Reactivación de la cepa

El primer paso consistió en reactivar la cepa del *Enterococcus faecalis* por lo cual el medio de cultivo utilizado fue el Agar Bilis Esculina, incubándose a 37°C por 72 horas en condiciones de aerobiosis. De igual manera se realizó la reactivación de *Candida albicans* en agar Sabouraud 2%, con 48 horas de incubación a 37°C.⁵¹

4.3.2. Siembra de los microorganismos

Se extrajo con asa de siembra 3 o 4 colonias de la cepa de *Enterococcus Faecalis* y se inocularon en 4 – 5 ml de suero fisiológico para preparar suspensiones de solución salina estandarizadas de *C. albicans* y *E. faecalis* por medio de una técnica espectrofotométrica ($\lambda = 530$ nm, DO = 1.258, y $\lambda = 760$ nm, DO = 1,258, respectivamente) ajustada a la escala Mc Farland 0,5 para asegurar una cantidad de 10^8 Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL).¹³

Luego se tomó 100 microlitros de cada una con puntas estériles y pipeta automática, colocando en cada placa respectiva para seguidamente diseminar con un hisopo por todo el Agar BHI en 10 placas Petri. Todo el procedimiento se realizó en las condiciones de esterilidad requeridas.

En cada placa se colocó cuatro discos pre esterilizados de Whatman de 5 mm de diámetro embebidas previamente en 15 ml de las diferentes soluciones irrigadoras, haciendo un total de 60 discos para *Enterococcus faecalis* y *Candida Albicans*.⁹

En cada disco se colocaron las soluciones de Hipoclorito de Sodio e Hipoclorito de Calcio por duplicado, además se colocó Hipoclorito de Sodio al 5,25% para el control positivo y agua destilada para el control negativo.

Las 10 placas fueron colocadas en una incubadora de precisión a 37°C por 24 horas esperando la inhibición del crecimiento bacteriano.

Se procedió a la lectura de los halos de inhibición bacteriana expresado en mm de diámetro con una regla de Pie de Rey digital de precisión tomándose en cuenta el promedio de los diámetros formados alrededor de cada sustancia evaluada a las 24 horas anotándose los resultados en la tabla de recolección de datos . El diámetro de esta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antibacteriana de las soluciones sobre el *Enterococcus faecalis* y la *Cándida albicans* .El valor de 5 mm se expresó como ausencia de inhibición bacteriana ya que corresponde al diámetro de los discos de Whatman.⁹

V, RESULTADOS

El procesamiento y análisis estadístico de los datos se realizó por medio del programa SPSS versión 20. Las pruebas se trabajaron a un nivel de significancia del 5 % ($p < 0.05$)

La estadística descriptiva se realizó mediante la presentación de tablas y gráfico La estadística analítica se realizó mediante la prueba de ANOVA que mide la probabilidad de que una diferencia entre los grupos del experimento haya sido por casualidad y la prueba de comparaciones múltiples de Turkey, entre pares.

Tabla N°1: Acción antibacteriana del Hipoclorito de Sodio al 5,25%, Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre un Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.

Soluciones Irrigantes	Media	D.S.	Mediana	Máximo	Mínimo	Varianza
Hipoclorito de Sodio al 5,25%	16,680	0,973	16,560	18,520	15,400	0,948
Hipoclorito de Sodio al 2,5%	13,380	0,646	13,380	14,400	12,520	0,418
Hipoclorito de Calcio al 2,5%	13,428	0,622	13,520	14,360	12,640	0,388

Se observa que la media de las medidas de los halos de inhibición bacteriana del Hipoclorito de Sodio al 5,25% fue de 16,680 , siendo esta la mayor en comparación de los demás grupos , seguida por la media del Hipoclorito de Calcio al 2,5% que fue de 13,428 y finalmente la del Hipoclorito de Sodio al 2,5% que fue de 13,380.

Tabla N°2 : Prueba de Anova

	Suma de Cuadrados	gl	Media Cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	71,559	2	35,780	61,213	0,000
Intra-grupos	15,782	27	0,585		
Total	87,341	29			

Según la Prueba de ANOVA existen diferencias significativas entre los grupos experimentales siempre y cuando $p < 0,05$, como también se puede dar la diferencia entre el control positivo y los grupos experimentales para ello usamos la prueba de comparación de Tukey.

Tabla N°3: Prueba de Normalidad: Según esta prueba puedo ver si los datos obtenidos presentan o no un grado alto de dispersión.

	Irrigante	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig
Tamaño de Halo	NaOCl al 5,25%	0,108	10	0,200	0,966	10	0,850
	NaOCl al 2,5%	0,171	10	0,200	0,940	10	0,558
	CaOCl al 2,5%	0,183	10	0,200	0,921	10	0,363

Según esta prueba las variables presentan distribución normal ya que $p > 0,05$

Tabla N°4: Test de Comparaciones Múltiples de Tukey

(I)Irrigante	(J)Irrigante	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de Confianza al 95%	
					Límite Inferior	Límite Superior
NaOCl al 5,25%	NaOCl al 2,5%	3,30000	0,34191	0,000	2,4523	4,1477
	CaOCl al 2,5%	3,25200	0,34191	0,000	2,4043	4,0997
NaOCl al 2,5%	NaOCl al 5,25%	-3,30000	0,34191	0,000	-4,1477	-2,4523
	CaOCl al 2,5%	-0,04800	0,34191	0,989	-0,8957	0,7997
CaOCl al 2,5%	NaOCl al 5,25%	-3,25200	0,34191	0,000	-4,0997	-2,4043
	NaOCl al 2,5%	0,04800	0,34191	0,989	-0,7997	0,8957

La diferencia de medias entre los grupos es significativa al nivel de confianza del 95% y $p < 0.05$, donde no se observan diferencias significativas entre el Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5% .

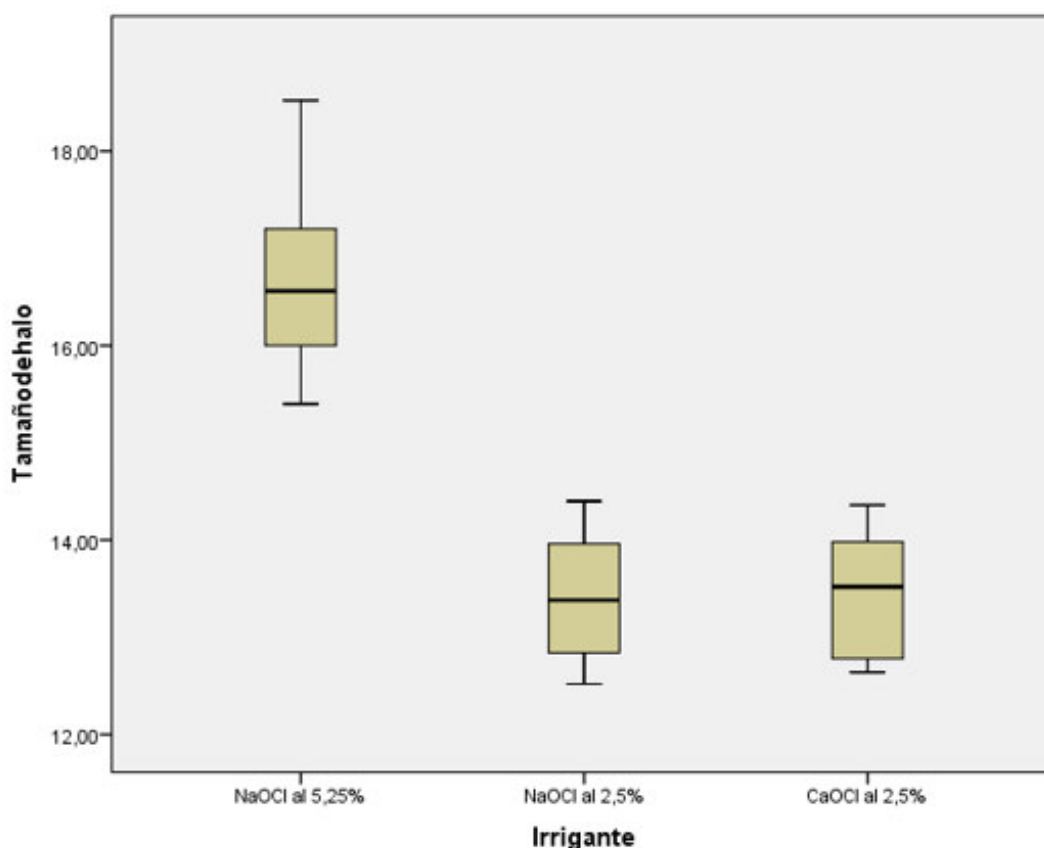


Gráfico N°1: Acción antibacteriana del Hipoclorito de Sodio al 5,25%, Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre un Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.

El gráfico representa la comparación entre las medidas de los halos de inhibición microbiana para las diferentes soluciones evaluadas frente al Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* donde se observa similar dispersión entre el Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5% pero una mayor dispersión a comparación del Hipoclorito de Sodio al 5,25% el cual es el control positivo, demostrando así con mayor claridad la similitud de la acción antimicrobiana entre los grupos experimentales.

VI. DISCUSIÓN

El propósito de la siguiente investigación fue determinar la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.

Existen varios métodos de laboratorio indicados para determinar in vitro la susceptibilidad de las bacterias frente a agentes antimicrobianos, siendo una de estas, la técnica del Test de difusión en agar, método que Ayhan y col. en el año 1999 usaron en su investigación para evaluar el efecto antimicrobiano de varios irrigantes endodónticos sobre seis microorganismos entre los cuales destaca el *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans* utilizando el Hipoclorito de sodio al 5.25%⁹, de igual manera Lin y col. en el año 2003 usaron la misma técnica para evaluar la actividad antibacteriana de la clorhexidina frente al *Enterococcus faecalis*¹¹, Fidalgo Da Silva y col. en el año 2010 también usaron esta técnica con tres soluciones irrigantes como ácido cítrico, EDTA, e Hipoclorito de Sodio a diferentes concentraciones sobre el *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*,¹³ motivo por el cual se trabajó con este método estandarizado de difusión en agar descrito por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), en nuestra investigación.

Radcliffe y col. en el 2004 evaluaron la actividad antimicrobiana de varias concentraciones de Hipoclorito de sodio sobre *A. naeslundii*, *A. israeli*, *C. albicans* y *E. faecalis* considerando al género *Actinomyces* como principal microorganismo presente en infecciones endodónticas, sin embargo, priorizaron al *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans* ya que

presentaban resistencia a los agentes antimicrobianos y hallaron que se encontraban comúnmente en infecciones endodónticas persistentes¹², también es preciso afirmar que Valera y col. en el año 2016 evaluaron la actividad antimicrobiana de diferentes soluciones químicas irrigantes sobre *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, las cuales se encontraron como principales responsables de procesos endodónticos refractarios.¹⁴

Consideramos en base a investigaciones previas el cultivo de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* como microorganismos principales en esta investigación. Como Wang y col. en el año 2012 encontraron asociación de *Enterococcus faecalis* presente en saliva y canales radiculares con periodontitis apical⁵², de forma similar, Kumar y col. en el año 2015 concluyeron en su investigación que había predominancia de *Candida albicans* como microorganismo oportunista en infecciones endodónticas refractarias y además al igual que el *Enterococcus faecalis* presenta una alta resistencia a los agentes antimicrobianos⁵³, Ashraf y col. en el año 2007 encontraron asociación de la periodontitis apical y *Candida albicans* como la especie más predominante de hongo y presente en su mayoría en fracasos endodónticos.⁵⁴

Diferentes soluciones irrigantes se han utilizado en la terapia endodóntica tales como la Clorhexidina, el EDTA, el Peróxido de Hidrógeno, y el Hipoclorito de Sodio los cuales son comúnmente usados con el fin de lograr una descontaminación adecuada del sistema de conductos radiculares, éste último es conocido por su alta actividad antimicrobiana y su capacidad para promover la disolución de materia orgánica tal como lo

menciona Dutta y col. en el año 2012 cuando compararon la capacidad como disolvente de tejido orgánico entre el Hipoclorito de Sodio y el Hipoclorito de Calcio en el cual no se observó diferencia significativa entre ambos²⁷, sin embargo, Tanomaru-Filho y col. en el año 2002 compararon la respuesta inflamatoria entre el Hipoclorito de Sodio y la Clorhexidina encontrando una alta citotoxicidad en el Hipoclorito de sodio siendo esta la mayor desventaja relativa a su uso⁵⁵.

En esta investigación se considera al Hipoclorito de Calcio, una nueva alternativa como irrigante, ya que ha demostrado capacidad de disolución de tejido orgánico de acuerdo a lo mencionado por Dutta y col. en el año 2012²⁷ y además una alta actividad antimicrobiana similar al Hipoclorito de Sodio encontrado por De Almeida y col. en el 2014¹⁵ y Dumani y col. en el 2016¹⁶. Fidalgo Da Silva y col. en el 2010¹³, Radcliffe y col. en el 2014¹², demostraron que la actividad antimicrobiana del Hipoclorito de sodio es directamente proporcional a la concentración usada, en ambos casos evaluaron al Hipoclorito de Sodio a una concentración de 0,5%, 1%, 2,5% y 5,25% ante un Biofilm conformado por microorganismos presentes en infecciones radiculares refractarias teniendo principalmente al *Enterococcus faecalis*, el cual demostró susceptibilidad ante dicha solución, de la misma manera, De Almeida y col. en el 2014¹⁵, Dumani y col. en el 2016¹⁶ demostraron que existía una alta capacidad antimicrobiana por parte del Hipoclorito de Calcio sobre el *Enterococcus faecalis*. Valera y col. en su investigación en el año 2013 demostraron una alta actividad antifúngica del Hipoclorito de Sodio sobre la *Candida albicans*¹⁴, estos resultados concuerdan con los obtenidos de la presente investigación donde se

evidencia su alta capacidad antimicrobiana sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* observando los halos obtenidos por el Hipoclorito de Sodio al 2,5% que mostraron un rango mínimo de 12,5mm y un máximo de 14,4mm, de la misma manera el Hipoclorito de Calcio al 2,5% mostró un rango mínimo de 12,6mm y un máximo de 14,3mm observándose claramente su acción sobre dichos microorganismos, resultados que guardan relación con lo obtenido por Estrela y col. en el año 2003 donde usaron Hipoclorito de Sodio al 2% sobre *Enterococcus faecalis*, obteniendo una media de halos de inhibición de 12 mm y sobre *Candida albicans* una media de 12 mm por un lapso de 48 horas a 37°C usando el test de difusión en agar⁵⁶. En esta investigación se buscó determinar eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de sodio al 2,5% y el Hipoclorito de calcio al 2,5% sobre un Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*, de acuerdo a De Almeida y col en el año 2014 en su investigación donde evaluaron la eficacia antimicrobiana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de sodio al 2,5% sobre *Enterococcus faecalis* asociado a irrigación pasiva ultrasónica donde no se observó diferencia significativa entre la capacidad antimicrobiana de cada solución por separado frente a dicha bacteria¹⁵ al igual que Dumani y col en el año 2016 evaluaron dicha eficacia usando Hipoclorito de Sodio al 2,5% e Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre *Enterococcus faecalis* pero esta vez usaron irrigación vibratoria sónica donde concluyeron que tampoco existía diferencia significativa entre la eficacia antimicrobiana de las soluciones sobre dicho microorganismo¹⁶, sin embargo en la presente investigación se utilizó la técnica directa de difusión de agar donde las soluciones experimentales actuaron directamente sobre

los microorganismos, aunque la técnica usada fue diferente, el resultado obtenido fue el mismo que los antecedentes ya que el tamaño de la media de los halos obtenidos por el Hipoclorito de Sodio al 2,5% de 13,3mm, del Hipoclorito de Calcio al 2,5% de 13,4mm, donde al someter los valores a pruebas de comparación estadísticas no se observan diferencias significativas entre ambas soluciones, lo que demuestra la similitud entre la capacidad antimicrobiana presentada por el Hipoclorito de Sodio al 2,5% y el Hipoclorito de Calcio al 2,5%, demostrando así su eficacia antimicrobiana como irrigante intraconducto, validando así la hipótesis planteada en nuestra investigación.

VII. CONCLUSIONES

En función a los objetivos planteados y de acuerdo a los resultados obtenidos se logró determinar la eficacia del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre un Biofilm formado por *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* donde concluye que :

1.- La solución de Hipoclorito de Calcio al 2,5% presentó en promedio un halo de inhibición bacteriana de 13,428mm con un valor máximo de 14,360mm y un valor mínimo de 12,640 mm sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Lo que indica que la solución tuvo acción antimicrobiana sobre el Biofilm.

2.- La solución de Hipoclorito de Sodio al 2,5% presentó en promedio un halo de inhibición bacteriana de 13,380mm con un valor máximo de 14,400mm y un valor mínimo de 12,520 mm sobre el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Lo que indica que la solución tuvo acción antimicrobiana sobre el Biofilm.

3.- La solución de Hipoclorito de Calcio al 2,5% tiene similar acción antibacteriana a la solución de Hipoclorito de Sodio al 2,5% al no presentar diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en cuanto a inhibición antimicrobiana en el Biofilm de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar futuras investigaciones utilizando Biofilms compuestos por una mayor cantidad de microorganismos presentes en infecciones periapicales refractarias.
2. Comparar en futuros estudios diferentes concentraciones de estas soluciones usando técnicas de irrigación pasiva y activa ya sea con metodología in vitro o evaluando resultados a largo plazo por medio de estudios in vivo.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Sedigh-Shams M, Badiiee P, Adl A, Sarab MD, Abbaszadegan A, Nabavizadeh M. In vitro comparison of antimicrobial effect of sodium hypochlorite solution and Zataria multiflora essential oil as irrigants in root canals contaminated with Candida albicans. JCD [serial online] 2016 [cited 2017 Oct 16];19:101-5.Disponible en :

<http://www.jcd.org.in/text.asp?2016/19/1/101/173212>
2. Jara M.Evaluación de la acción antibacteriana de dos pastas a base de hidróxido de calcio sobre el Enterococcus faecalis .Tesis para obtener el grado de Magister en Odontología.Lima.Universidad Nacional Mayor de San Marcos.Facultad de Odontología.2013
3. Siqueira J, Rocas IN, Favieri A, Lima K. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2,5% and 5,25% sodium hypochlorite. JOE. 2000; 6:331-34 doi:

10.1097/00004770-200006000-00006
4. Costa S R.; Gasparini, D O.; Valsecia, M E. Farmacovigilancia. Reacciones adversas producidas por hipoclorito de sodio utilizado como irrigante en endodoncia. Comunicaciones científicas y tecnológicas, 2004, vol. 19, p. 25
5. Hülsmann, M. and Hahn, W. (2000), Complications during root canal irrigation – literature review and case reports.Int Endod J, 33: 186–193. doi:10.1046/j.1365-2591.2000.00303.x

6. Di Lenarda, R., Cadenaro, M. and Sbaizero, O. (2000), Effectiveness of 1 mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int Endod J*, 33: 46–52. doi:10.1046/j.1365-2591.2000.00273.x
7. Badiie P, Adl A, Sarab MD, Abbaszadegan A, Nabavizadeh M. In vitro comparison of antimicrobial effect of sodium hypochlorite solution and Zataria multiflora essential oil as irrigants in root canals contaminated with *Candida albicans*. *JCD*. 2016 Jan-Feb;19(1):101-5.
8. Marion JC, Manhães FC, Bajo H, Duque TM. Efficiency of different concentrations of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Literature review. *Dental Press Endod*. 2012 Oct-Dec;2(4):32-7.
9. Ayhan, H., Sultan, N., Çirak, M., Ruhi, M. Z. and Bodur, H. (1999), Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J*, 32: 99–102. doi:10.1046/j.1365-2591.1999.00196.x
10. Valera, MC; De Moraes, J; Olavo C. Effect of sodium hypochlorite and five intracanal medications on *Candida albicans* in root canals. *JOE*, 2001, vol. 27, no 6, p. 401-403. doi: 10.1097/00004770-200106000-00008
11. Lin, Y. H., Mickel, A. K., & Chogle, S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *JOE*, 2003. 29(9), 565-566. doi: 10.1097/00004770-200309000-00006
12. Radcliffe C, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of

sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 37, 438–446, 2004. doi: 10.1111/j.1365-2591.2004.00752.x

13. Fidalgo T., Barcelos R., Portela M., Soares R., Gleiser R., Silva-F.. Inhibitory activity of root canal irrigants against *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Braz. Oral Res.* [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 July 16] ; 24(4): 406-412.doi: 10.1590/S1806-83242010000400006

14. Valera MC, Maekawa L E, Oliveira L, Carvalho CA . In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* in root canals..*FOB.* [Internet]. 2013 Apr [cited 2016 July 06] ; 21(2): 118-123.doi: 10.1590/1678-7757201302135

15. De Almeida, A. P., Souza, M. A., Miyagaki, D. C., Dal Bello, Y., Cecchin, D., & Farina, A. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study.*JOE*,2014; 40(12), 1953-1957.doi: 10.1016/j.joen.2014.08.025

16. Dumani, A., Guvenmez, H. K., Yilmaz, S., Yoldas, O., & Kurklu, Z. G. B. Antibacterial Efficacy of Calcium Hypochlorite with Vibringe Sonic Irrigation System on *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. *BioMed Res Int*, 2016.doi: 10.1155/2016/8076131

17. Miliani, R, Lobo, K, Morales, OA. Irrigación en endodoncia: Puesta al día. *Acta bioclínica*, 2013, vol. 2, no 4.

18. Van der Sluis, L. W., Verhaagen, B., Macedo, R., & Versluis, M. The Role of Irrigation in Endodontics. In *Lasers in Endodontics* .Springer International Publishing.2013; (pp. 45-69).
19. Saldaña ,J. Efectividad antibacteriana del uso alternado de dos soluciones de gluconato de clorhexidina al 0.12% y 2% con hipoclorito de sodio al 5.25% en el tratamiento de conductos radiculares.Tesis para obtener el grado de Cirujano Dentista . Lima .Facultad de Odontología ,Universidad Nacional Mayor de San Marcos (2008);22
20. Rojas L, Vera J . Conceptos y técnicas actuales en la irrigación endodóntica. *Endodoncia*, 2012, vol. 30, no 1, p. 31-44.
21. Haapasalo, M., Shen, Y., Wang, Z., & Gao, Y. (2014). Irrigation in endodontics. *BDJ*, 216(6), 299.doi: 10.1016/j.cden.2009.12.001
22. Rôças, I. , Provenzano, J., Neves, M. , & Siqueira, J. (2016). Disinfecting effects of rotary instrumentation with either 2.5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine as the main irrigant: a randomized clinical study.*JOE*, 42(6), 943-947.doi: 10.1016/j.joen.2016.03.019
23. Balandrano F. Soluciones para irrigación en endodoncia: Hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina. *Revista Científica Odontológica*, 2010, vol. 3, no 1.
24. Harrison, J. W. et al. Analysis of interappointment pain associated with the combined use of endodontic irrigants and medicaments. *JOE.*, v.7, n.6, p.272-276 .2002.doi: 10.1016/S0099-2399(81)80006-4

25. Yee San S. et al. Chemical kinetics of calcium hypochlorite decomposition in aqueous solutions. Journal of Chemical Health & Safety, pag.21-29 May/June 2009. doi: 10.1016/j.jchas.2008.07.002
26. Safe Drinking Water Foundation web site. Available at: <http://www.safewater.org/PDFS/resourcesknowthefacts/WhatIsChlorination.pdf>. Accessed May 20, 2012.
27. Dutta A. ,Saunders W.. Comparative Evaluation of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite on Soft-tissue Dissolution.JOE.Volume 38, Issue 10, October 2012, Pages 1395–1398.doi: 10.1016/j.joen.2012.06.020
28. Leonardo N, Carlotto I, Luisi S, Kopper P, Grecca F, Montagner F. Calcium Hypochlorite Solutions: Evaluation of Surface Tension and Effect of Different Storage Conditions and Time Periods over pH and Available Chlorine Content.JOE. 2016 Apr;42(4):641-5.doi:10.1016/j.joen.2016.01.006
29. Siqueira J Jr, Rôças I. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. OOOE 2009; 107:870-8. Doi:10.1016/j.tripleo.2009.01.044
30. Svensäter, G. and Bergenholtz, G. (2004), Biofilms in endodontic infections. Endod Topics, 9: 27–36. doi:10.1111/j.1601-1546.2004.00112.x
31. Sirvent F., García B. "Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia." Endodoncia 28.4 (2010): 241-256.
32. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:86–93.

33. Siqueira J Jr, Rocas I. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008;34:1291–1301.e1293.
34. George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *JOE* 2005;31:867-72.doi: 10.1097/01.don.0000164855.98346.fc
35. Distel J, Hatton J, Gillespie M. Biofilm formation in medicated root canals. *JOE* 2002;28:689-93.doi: 10.1097/00004770-200210000-00003
36. Peters L, Wesselink P, Moorer W. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J* 1995;28:95-9.doi: 10.1111/j.1365-2591.1995.tb00166.x
37. Gomes B, Pinheiro E, Gade-Neto R, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:71–6.
38. Dumani A, Yoldas O, Yilmaz S, et al. Polymerase chain reaction of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in apical periodontitis from Turkish patients.*J Clin Exp Dent* 2012;4:e34–9.
39. Pirani C, Bertacci A, Cavrini F, et al. Recovery of *Enterococcus faecalis* in root canal lumen of patients with primary and secondary endodontic lesions. *New Microbiol* 2008;31:235–40.
40. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, et al. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:289–95.

41. Gomes B, Pinheiro E, Sousa EL, et al. Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;102:247–53.
42. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. Endod Dent Traumatol 1995;11:6–9.
43. Siqueira J Jr, Rôças I, Lopes H. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002;93:174–8
44. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of Candida albicans in infections of endodontic origin. J Endodon 2000;26:695–8.
45. Nair P, Sjögren U, Krey G, Kahnberg E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endodon 1990;16:580–8.
46. Waltimo T, Sireén E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. Int Endod J 1997;30:96–101. doi: 10.1046/j.1365-2591.1997.00058.x
47. Molander, A., Reit, C., Dahle ´n, G. & Kvist, T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod .1998;J 31, 1–7.
48. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001;34:429–34.

49. Siqueira, J. F., Rôças, I. N., Lopes, H. P., Magalhães, F. A., & de Uzeda, M. (2003). Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medications. *JOE*, 29(8), 501-504.doi: 10.1097/00004770-200308000-00003
50. Waltimo T, érstavik D, SireÂn EK, Haapasalo MPP. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*, 32, 421±429, 1999.doi: 10.1046/j.1365-2591.1999.00237.x
51. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol*.1990; 6(4):149.
52. Wang Q, Zhang C, Chu C, Zhu X. Prevalence of *Enterococcus faecalis* in saliva and filled root canals of teeth associated with apical periodontitis. *International Journal of Oral Science*. 2012;4(1):19-23. doi:10.1038/ijos.2012.17.
53. Kumar J, Sharma R, Sharma M, Prabhavathi V, Paul J, Chowdary CD. Presence of *Candida albicans* in Root Canals of Teeth with Apical Periodontitis and Evaluation of their Possible Role in Failure of Endodontic Treatment. *Journal of International Oral Health : JIOH*. 2015;7(2):42-45.
54. Ashraf H, Samiee M, Eslami G, Ghodse Hosseini MR. Presence of *Candida Albicans* in Root Canal System of Teeth Requiring Endodontic Retreatment with and without Periapical Lesions. *Iranian Endodontic Journal*. 2007;2(1):24-28.

55. Tanomaru-Filho M, Leonardo MR, Silva LA, et al. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002;35:735–9.
56. Estrela, C, Ribeiro, R Galhardo, E, Cyntia R.A., Pécora, J D, & Sousa-Neto, M D. (2003). Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Brazilian Dental Journal*, 14(1), 58-62. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402003000100011>

ANEXOS

Ficha para la recolección de Datos

Medidas de halos de Inhibición a las 24 horas

Actividad antibacteriana del Hipoclorito de Calcio al 2,5% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre Enterococcus faecalis y Candida albicans				
Halos de Inhibición a las 24 hrs				
N° de Placa	Hipoclorito de Calcio al 2,5% sobre E.faecalis y C.albicans	Hipoclorito de Sodio al 2,5% sobre E.faecalis y Candida albicans	Agua Destilada Control (-)	Hipoclorito de Sodio al 5,25% Control (+)
1	13,98	14,2	0,5	17,2
2	14,12	12,52	0,5	15,4
3	12,94	12,72	0,5	17
4	13,68	13,4	0,5	16,46
5	14,36	14,4	0,5	16
6	12,64	12,84	0,5	15,48
7	12,74	13,5	0,5	18,52
8	13,56	13,36	0,5	17,72
9	13,46	12,9	0,5	16,36
10	12,78	13,96	0,5	16,66

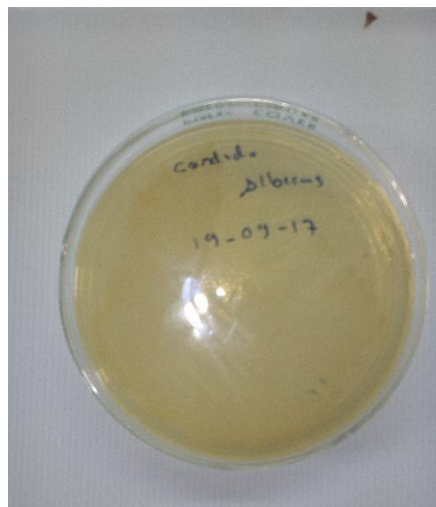
Fig.1. Reactivación de la cepa de *Enterococcus faecalis* en Agar Bilis

Esculina



Fig.2. Reactivación de la cepa de *Candida albicans* en Agar Saboraud

al 2%



PROCEDIMIENTO



Fig.3.Mesa de Trabajo que contiene:
Micropipetas, asas de siembra,
mechero, tubos de ensayo y medios de
cultivo Bilis Esculina.



Fig.4.Ajuste a escala de McFarland



Fig.5. Diseminación de *Enterococcus*
faecalis y *Candida albicans* en placas
Petri



Fig.6.Discos estériles



Fig.7.Tubos con soluciones preparadas:1:NaOCl al 5,25%; 2:NaOCl al 2,5%; 3:CaOCl al 2,5%y 4: Agua



Fig.8.Discos embebidos en las soluciones experimentales

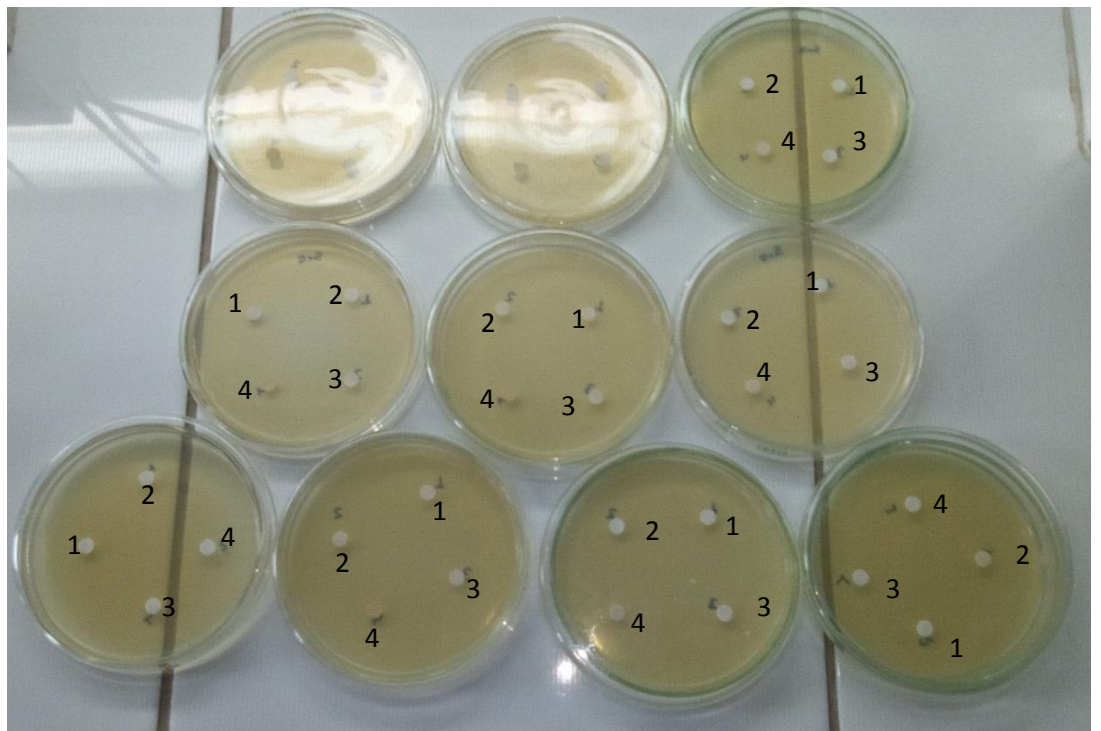


Fig.9.10 Placas Petri sembradas con *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* las cuales contienen discos embebidos en soluciones donde 1.Hipoclorito de Sodio al 5,25% (Control+)2. Hipoclorito de Sodio al 2,5%,3. Hipoclorito de Calcio al 2,55 ,4. Agua

Halos de Inhibición

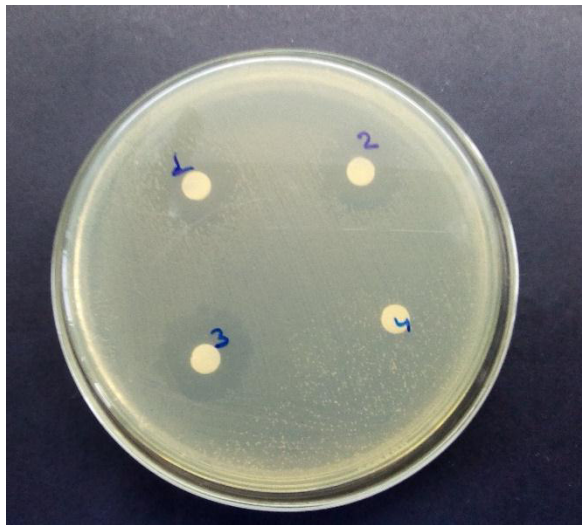


Fig.10. Formación de Halos de Inhibición en Agar BHI



Fig.11. Toma de medidas del halo de inhibición formado según marcaje

Fig.12. Halos de Inhibición correspondientes 1. NaOCl al 5,25%, 2. NaOCl al 2,5%, 3. CaOCl al 2,5% ,4. Agua Destilada

